

- 5. Juni 2007

51

Int. Cl.:

A 23 I, 1/02

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES PATENTAMT



52

Deutsche Kl.:

66, 21-03

53 k, 1/01

Anlage D1

Einspruch gegen EP 1 289 380

Anmelder: Unilever N.V.

Einsprechende: Stralsunder Brauerei

Weickmann & Weickmann

Kopernikusstr. 9, 81679 München

10

11

21

22

43

# Offenlegungsschrift 2 001 874

Aktenzeichen: P 20 01 874.0

Anmeldetag: 16. Januar 1970

Offenlegungstag: 3. Februar 1972

Ausstellungspriorität: —

30

Unionspriorität

32

Datum: —

33

Land: —

31

Aktenzeichen: —

54

Bezeichnung: Milchsäurehaltige Gemüse- oder Fruchtsäfte

61

Zusatz zu: —

62

Ausscheidung aus: —

71

Anmelder: Eden-Waren GmbH, 6483 Bad Soden

Vertreter gem. § 16 PatG: —

72

Als Erfinder benannt. Antrag auf Nichtnennung

Prüfungsantrag gemäß § 28 b PatG ist gestellt

Vgl. Ber. - L. 25/73

DT 2001874

DR.ING. JÜRGEN SCHMIDT  
DR.HERNAT. BRUNO REITZNER  
PATENTANWÄLTE

8 MÜNCHEN 2  
HERMANN-RACH-STR. 3  
TELEFON 8811/24 0779  
TELEGRAMME: PATUS MÜNCHEN

2001874

16. Januar 1970

Unser Zeichen: P-3643-1

P a t e n t a n m e l d u n g

der Firma

Eden-Waren GmbH, Bad Soden / Taunus

betreffend

Milchsäurehaltige Gemüse-oder Fruchtsäfte

Es sind milchsäurehaltige Gemüsesäfte in der Literatur mehrfach beschrieben. So ist in der deutschen Patentschrift 1 012 813 ein Verfahren zur Herstellung von milchsäurehaltigen Gemüsesäften beschrieben, bei dem die Gemüsesäfte nach einer Animpfung mit einer hochkonzentrierten Milchsäurebakterienkultur mit einem Keimgehalt von etwa 100 bis 500 Milliarden pro ml Kulturflüssigkeit, insbesondere einer Kultur von Bakterien aus grünen Pflanzenteilen bei 35 bis 38<sup>0</sup>C einer Schnellgärung unterworfen werden, bis der pH-Wert des Saftes auf etwa 4,0 abgesunken ist. Dann wird die Gärung unterbrochen, und es wird bei etwa 55 bis 60<sup>0</sup>C etwa 5 bis 10 Minuten pasteurisiert.

Nach der deutschen Auslegeschrift 1 264 230 wird dieses Verfahren dahingehend abgewandelt, daß Maische vergoren wird und daß man die Gärung bis zu einem pH-Wert von 4,5 oder darunter durchführt und dann gegebenenfalls unvergorene Maische zugibt, abpreßt und pasteurisiert.

109886/0621

Diese Verfahren führen zwar zu befriedigend haltbaren Gemüsesäften, doch wird nichts darüber ausgesagt, ob es sich bei den Bakterienkulturen um homofermentative oder um heterofermentative Stämme handelt. Außerdem wird nichts über die Art der gebildeten Milchsäure ausgesagt, d.h. ob L(+)-, D(-)- oder DL-Milchsäure gebildet wird. Man muß davon ausgehen, daß die gebildete Milchsäure weitgehend aus Racemat besteht.

Außerdem werden bei der Heterofermentation, wie sie z.B. durch *Lactobacillus fermenti*, *Lactobacillus brevis* oder *Leuconostoc* bewirkt wird, neben Milchsäure auch etwa äquimolare Mengen an Kohlensäure und Essigsäure bzw. Alkohol gebildet. Dies führt zu Schwierigkeiten bei der Verarbeitung, da durch die Freisetzung von CO<sub>2</sub> eine Schaumbildung erfolgt; außerdem tritt eine Geschmacksbeeinträchtigung des Produktes durch die Essigsäure ein (stechender bzw. spitzer Geschmack).

Die vorliegende Erfindung geht daher von der Erkenntnis aus, daß die milchsäurehaltigen Säfte möglichst nur die L(+)-Milchsäure enthalten sollten, d.h. in Mengen von mindestens etwa 75 %, vorzugsweise von mindestens 90 %. Dieser Gesichtspunkt hat große physiologische Bedeutung, da der menschliche Organismus nur L(+)-Milchsäure in physiologischer Weise verwerten kann. Solche milchsäurehaltigen Säfte sind bisher nicht bekannt. Weiter betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren, das sicherstellt, daß die Säfte tatsächlich nur die L(+)-Milchsäure in der angegebenen Mindestkonzentration enthalten. Hierzu ist es im Gegensatz zu den bekannten Verfahren nötig, daß man die Säfte bzw. die Maische zunächst von allen milchsäurebildenden Bakterien befreit, z.B. durch entsprechende Hitzebehandlung, worauf man sie unter Zusatz von nur oder fast nur (mindestens zu 90 %) L(+)-Milchsäure bildenden Bakterien vergärt, abpreßt und in üblicher Weise pasteurisiert.

Die Hitzebehandlung kann beispielsweise dadurch erfolgen, daß

die Maische oder der Saft durch erhitzte Rohre geleitet wird, wobei er für 20 - 40 Sekunden eine Temperatur von etwa 70 - 80°C erreicht. Erst dann kann die Milchsäuregärung mit Bakterien, die zumindest zu 90 % oder mehr L(+)-Milchsäure bilden, erfolgen.

Bei den bisherigen Verfahren wurden dem Saft oder der Maische die Kulturen ohne vorherige Entkeimungsmaßnahme zugesetzt, was zu einer Mischgärung führte, an der die zugesetzten Kulturen in mehr oder weniger großem Umfange beteiligt waren. Entsprechend ergab sich im Endprodukt ein wechselnder Gehalt an CO<sub>2</sub> und Essigsäure neben Milchsäure, die in der Regel als Racemat mit wechselnden aber stets nur geringen Überschüssen an D(-)- oder L(+)-Milchsäure vorlag.

Das vorliegende Verfahren setzt ein weitgehend entkeimtes Gärgut (Saft oder Maische) voraus, so daß sich die zugesetzten, nach den oben beschriebenen Gesichtspunkten ausgewählten Kulturen praktisch alleine durchsetzen und zu einer weitgehend reinen L(+)-Milchsäuregärung führen. Dieses Ziel wird durch Pasteurisierung des Gärungsgutes erreicht. Zusätzlich muß für die strikte Desinfektion des Gärbehälters und der zur Füllung benützten Rohrleitungen Sorge getragen werden.

Sofort nach dem Pasteurisieren wird das Gärgut in einem Wärmeaustauscher abgekühlt, beispielsweise auf etwa 40°C. Die Beimischung der Bakterienkulturen erfolgt am besten unmittelbar nach dem Wärmeaustauscher. Die Gärung selbst kann bei langsam fallender Temperatur während 12 - 20 Stunden erfolgen. Die Ausgangstemperatur beträgt entsprechend der vorhergehenden Kühlung etwa 38°C und sinkt während der Bebrütungszeit je nach Größe des Gärbehälters um 1 bis 3°C. Der pH-Wert erreicht nach 12 bis 20 Stunden einen Endwert von etwa 3,7 bis 3,9. Das Gärgut wird dann in an sich bekannter Weise abgepreßt und pasteu-

35 risiert.

Man kann die Gärung auch schon nach dem Erreichen eines aus geschmacklichen Gründen günstigeren, etwas höheren pH-Werts (in der Regel etwa 4,1 - 4,5) abstoppen, was wiederum durch Pasteurisieren erfolgen kann.

Der geschmacklich günstige pH-Wert kann auch durch Zusatz von unvergorenem Saft oder Maische zu dem vollständig durchgego-  
renen Saft bzw. der Maische eingestellt werden, worauf das  
Gemisch pasteurisiert wird, um eine Nachgärung zu vermeiden.  
Wenn der unvergorene Saft bzw. Maische der Maische zugesetzt  
wird, kann das Gemisch anschließend abgepreßt werden. Vor-  
zugsweise wird der unvergorene Saft bzw. die Maische vor dem  
Zusatz zum durchgego- renen Saft bzw. zur Maische pasteurisiert,  
um eine spontane Gärung zu vermeiden.

Obwohl die Befreiung von milchsäurebildenden<sup>1</sup> Bakterien vor-  
zugsweise durch Pasteurisierung erfolgt, ist es auch möglich,  
diese Bakterien auf andere Weise, z.B. durch Abfiltrieren oder  
Abzentrifugieren, aus dem eingesetzten Saft oder der Maische  
zu entfernen.

27. Die milchsäurehaltigen Gemüse- und Fruchtsäfte enthalten, wenn  
sie durch Gärung gewonnen werden, nach dem Pasteurisieren noch  
gärungsunfähige Milchsäurebakterien. Sie zeigen eine tyndalli-  
sierende Wolkigkeit der Schwebestoffe und sind lange Zeit halt-  
bar, ohne daß sich die Schwebestoffe absetzen.
- 26

Eine Geschmacksverbesserung kann dadurch erzielt werden, daß  
man Milchsäurebakterien verwendet, die außer L(+)-Milchsäure  
nur wenige Prozente an Gärungsnebenprodukten, wie CO<sub>2</sub>, Ameisen-  
säure, Essigsäure, niedere Alkohole, Ketone, Ester usw. erzeu-  
gen.

Die Erfindung ist durch die nachstehenden Beispiele erläutert.

Beispiel 1

Vergärung von Karottenmaische

Die Karotten werden gründlich gewaschen, anschließend geschält (z.B. in einer Dampfschälanlage) und mit Wasser von 95°C blanchiert (z.B. 16 Minuten, was von der Größe der Karotten abhängt). Die blanchierten Karotten werden in einer Mühle zu einer pumpfähigen Maische gemahlen. Dann wird die Maische in einem Röhrenerhitzer auf 70°C erhitzt. Diese Temperatur wird 20 Sekunden eingehalten. Danach wird die Maische in einem Kühler, welcher vorher durch Ausdämpfen mit überhitztem Wasserdampf keimfrei gemacht worden war, auf 38°C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wird die Maische (4000 l) mit 120 l der nachstehend noch näher beschriebenen Kultur beimpft, wobei die Animpfkultur über eine vorher keimfrei gemachte Dosieranlage der Maische zugegeben wird. Die unvergorene, beimpfte Maische hat einen pH-Wert von 5,8 und wird über keimfreie Rohre, die vorher etwa 15 Minuten ausgedämpft wurden, in den ebenfalls ausgedämpften Gärbehälter gepumpt. Die Temperatur der Maische im Gärbehälter beträgt etwa 36°C. Nach 6 Stunden ist der pH-Wert bereits auf 4,5 abgesunken. Nach 10 Stunden erreicht die Maische einen pH-Wert von 4,0, nach 20 Stunden einen pH-Wert von 3,75. Die Temperatur beträgt nach 20 Stunden noch etwa 34°C. Nach spätestens 20 Stunden wird die Maische abgepumpt, mit unvergorener Maische in der Weise vermischt, daß ein pH-Wert von 4,1 erhalten wird. Dazu sind etwa 5.500 l unvergorene Maische mit einem pH-Wert von 5,8 notwendig. Dieses Maischegemisch wird abgepreßt, und der Preßsaft wird über einen Plattenerhitzer pasteurisiert und in Tanks eingelagert. Saftausbeute: etwa 7400 Liter L(+)-milchsaurer Karottensaft (pH-Wert 4,1). Die Milchsäure des so erzeugten Saftes setzt sich aus ca. 95 % L(+)- und 5 % D(-)-Milchsäure zusammen. Als Nebenprodukte enthält der Saft wasserdampf-flüchtige Säuren (vorwiegend Ameisen- und Essigsäure) in Mengen von insgesamt etwa 2 % der Gesamtsäure.

109886/0621

### Herstellung der Animpfkultur

Für die Kulturen werden Gemische von Stämmen der Arten *Lactobacillus salivarius*, *L. casei*, *Streptococcus lactis* und *Str. cremoris* verwendet die aus spontangärendem Pflanzenmaterial oder von menschlichen Schleimhäuten, z.B. der Mundhöhle, isoliert wurden und sich durch die Bildung von reiner bzw. zu mindest 95 % reiner L(+)-Milchsäure auszeichnen.

Die Stammkulturen werden in 500-ml-Erlenmeyerkolben, die 300 ml Karottensaft enthalten, angezüchtet. Der Saft wird vor der Beimpfung in den Kolben durch 20 minütiges Autoklavieren bei 120°C sterilisiert. Zur Weiterführung der Kulturen wird alle drei Tage ein neuer Kolben Karottensaft mit einem Milliliter der alten Kultur beimpft. Die Bebrütung erfolgt bei 37°C.

Zur Vergärung von 4000 l Karottenmaische werden 3 Kolben mit je 10 l Karottensaft, die ebenfalls durch Autoklavieren keimfrei gemacht wurden, mit je 300 ml Stammkultur beimpft und 14 Stunden bei 37°C bebrütet. Nach der Bebrütung liegt der pH-Wert bei etwa 3,8; die Lebendkeimzahl beträgt zu diesem Zeitpunkt etwa  $5 \times 10^9$  Bakterien/ml. Die Milchsäure dieser Vorkultur muß mehr als 90 % L(+)-Isomer enthalten. Die Animpfkultur erhält man aus der Vorkultur dadurch, daß zur Beimpfung von 4000 l Maische 30 l Vorkultur mit 100 l pasteurisiertem unvergorenem Saft in einem sterilen rostfreien Gefäß gemischt werden.

### Beispiel 2

#### Vergärung von Karottensaft

Die Karotten werden - genau wie in Beispiel 1 beschrieben- gewaschen, geschält, blanchiert und zu einer pumpfähigen Maische vermahlen. Diese wird jedoch sofort auf der Presse abgeimpft. Der so erhaltene unvergorene Preßsaft läuft über einen Platten-erhitzer (Erhitzung auf 74°C für 20 sec) und von dort über

109886/0621

durch 15-minütiges Ausdampfen entkeimte Rohre in den ebenso lange ausgedampften Gärbehälter. Die Temperatur des Saftes nach dem Plattenerhitzer beträgt 38°C. Die Herstellung und dosierte Zugabe der Kultur erfolgt bei der Saftvergärung in prinzipiell gleicher Weise wie bei der Maischevergärung (Beispiel 1), jedoch wird hier die Kultur nach dem Plattenerhitzer zugegeben. Zur Vergärung von 4000 l Karottensaft sind - ebenso wie bei der Maischevergärung - 130 l Animpfkultur erforderlich. Der Gärungsverlauf ist ähnlich dem der Maischevergärung. Nach spätestens 20 Stunden ist die Gärung beendet (pH-Wert etwa 3,8). Der vergorene Saft wird abgepumpt und mit unvergorenem Saft verschnitten, bis ein pH-Wert von 4,1 erreicht ist. Für 4000 l vergorenen Saft (pH-Wert 3,8) sind dazu etwa 5000 l unvergorener Presssaft (pH-Wert 5,6) notwendig. Der fertig verschnittene Saft wird über einen Plattenerhitzer pasteurisiert und in Tanks eingelagert. Die Milchsäure des so erzeugten vergorenen Karottensaftes enthält über 95 % L(+)-Isomer. Die Menge an wasserdampf-flüchtiger Säure beträgt weniger als 2 % der Gesamtsäure.

### Beispiel 3

#### Vergärung von Saft roter Rüben

Die roten Rüben werden als Maische vergoren. Die Aufarbeitung dieser Gemüseart folgt prinzipiell dem gleichen Weg wie die der Karottenmaische. Jedoch wird die Maische der roten Rüben nach der Mühle noch zusätzlich entlüftet, um eine Bräunung der Maische durch Oxydationsvorgänge zu verhindern. Nach dem Entlüfter wird die Maische in einem Röhrenerhitzer für die Dauer von 20 sec auf 70°C erhitzt, anschließend auf 38°C abgekühlt. Die Animpfkultur (130 l pro 4000 l Maische) wird wie bei der Karottenmaische über die Dosieranlage zugegeben. Die Anzucht der Kulturen erfolgt jedoch hier in sterilem Saft roter Rüben. Die Vergärung geschieht in ausgedämpften Behältern. Nach etwa 10 bis 12 Stunden ist der pH-Wert von 6,0 auf 4,1 abgesun-

109886/0621



ken. Dann wird die Maische abgepreßt, der Preßsaft über einen Plattenerhitzer pasteurisiert und in Tanks gelagert. Saftausbeute: 3100 l L(+)-milchsaurer Saft roter Rüben (pH-Wert 4,1) aus 4000 l Maische. Die Milchsäure dieses Saftes roter Rüben besteht aus 97 % L(+)-Isomer. Die Menge der wasserdampflichen Säuren beträgt weniger als 3 %.

#### Beispiel 4

##### Vergärung von Bananenmaische

Die Bananen werden geschält, blanchiert und zu einer pumpfähigen Maische zerkleinert. Wie bereits in Beispiel 1 für Karottenmaische beschrieben, wird nach Entkeimung im Röhren erhitzer (20 sec; 70°C) durch Zugabe von 130 Liter Bakterienkultur zu 4000 l Maische angeimpft, wobei an Bananenmaische angepaßte Milchsäurebakteriengemische der Gattungen Streptococcus und Lactobacillus, die nur oder fast nur L(+)-Milchsäure erzeugen, verwendet werden. Die Anzucht der Keime erfolgt in steriler Bananenmaische, die 1:1 mit sterilem Bananensaft gemischt ist. Die Vergärung erfolgt wie im Beispiel 1 im ausgedampften Gärbehälter bei einer Anfangstemperatur von 38°C. Nach 24 Stunden ist der pH-Wert auf 3,9 abgesunken, die Temperatur auf 35°C. Die Maische wird zum Abstoppen der Gärung im Röhren erhitzer für 20 sec auf 74°C erhitzt und entweder sofort zu den gewünschten milchsauernden Produkten (z.B. Bananensaft bzw. Mischungen verschiedener Fruchtsäfte mit Bananensaft oder Kompott bzw. Mischkompotte mit anderen Früchten) verarbeitet oder bis zur Verarbeitung in Tanks auf Lager gelegt. Bei jeder Verarbeitung mit unvergorenen Säften oder Maischen muß nach der Abfüllung erneut pasteurisiert werden, um Nachgärungen zu vermeiden. Die Milchsäure liegt in der so hergestellten sauren Bananenmaische zu 96 % als L(+)-Milchsäure vor.

- Patentansprüche -

109886/0621

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Milchsäurehaltige Gemüse- oder Fruchtsäfte, dadurch gekennzeichnet, daß der Milchsäuregehalt zu mindestens etwa 75 % aus L(+)-Milchsäure besteht.
2. Milchsäure Gemüse- oder Fruchtsäfte nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Milchsäuregehalt zu mindestens etwa 90 % aus L(+)-Milchsäure besteht.
3. Milchsäure Gemüse- oder Fruchtsäfte nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß sie gärungsunfähige Milchsäurebakterien enthalten.
4. Verfahren zur Herstellung von Gemüse- oder Fruchtsäften nach einem der Ansprüche 1 - 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Gemüse- oder Fruchtmaischnen bzw. -säfte zunächst, vorzugsweise durch Pasteurisierung von allen milchsäurebildenden Bakterien befreit und dann unter Zusatz von nur oder fast nur (mindestens zu 90 %) L(+)-Milchsäure bildenden Bakterien vergoren, abgepreßt und in üblicher Weise pasteurisiert werden.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß man Milchsäurebakterien verwendet, die neben der L(+)-Milchsäure nur wenige Prozente an Gärungsnebenprodukten erzeugen.
6. Verfahren nach Anspruch 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet, daß man der bis auf einen pH-Wert von etwa 3,7 - 3,9 vergorenen Maische bzw. dem Saft unvergorene Maische bzw. unvergorenen Saft zusetzt und das Gemisch pasteurisiert.
7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man bei Verwendung von vergorener und/oder unvergorener Maische, die gegebenenfalls vorpasteurisiert wurde, das Gemisch vor dem Pasteurisieren abpreßt.

8. Verfahren nach Anspruch 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet, daß man die Gärung nach Erreichen eines pH-Wertes von etwa 4,1 - 4,5 abstoppt.

R/z

109886/0621

---